

# EFICACIA DE DIFERENTES MÉTODOS DE INOCULAÇÃO EM COLMEIAS DE *Apis mellifera* L.COM ESPOROS DO FUNGO

## *Ascosphaera apis*



ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA  
DE BRAGANÇA  
Departamento de Zootecnia

J M. F. Serrano<sup>1</sup>, S.M.A. Pires<sup>2</sup>, F. Puerta<sup>1</sup> & I. Gutiérrez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro Andaluz de Apicultura Ecológica - Campus Universitario de Rabanales 14071, Córbova - Espanha

e-mail: [ba1pupuf@uco.es](mailto:ba1pupuf@uco.es)

<sup>2</sup>Escola Superior Agrária de Bragança – Departamento de Zootecnia; Apartado 172, 5300 Bragança Codex - Portugal

e-mail: [spires@ipb.pt](mailto:spires@ipb.pt)



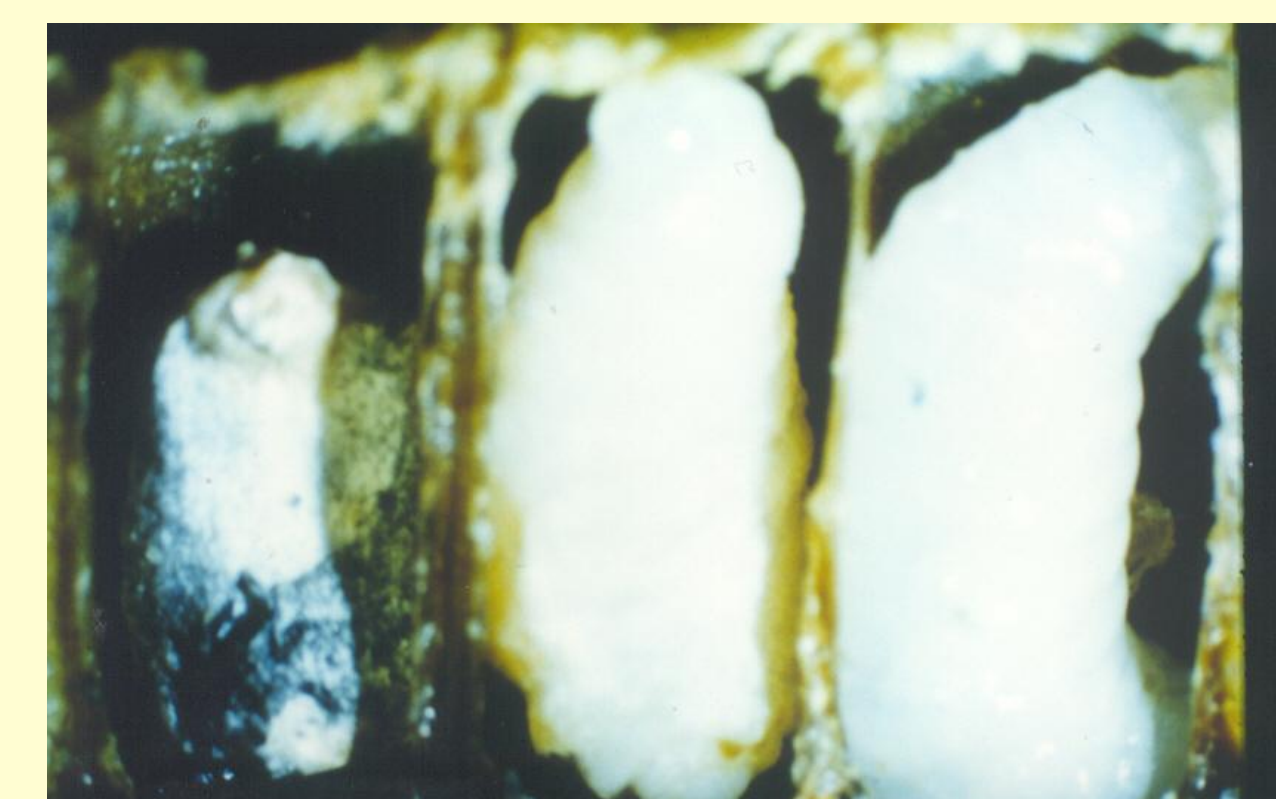
## INTRODUÇÃO

A ascosferose é uma micose invasiva que afecta as larvas das abelhas em desenvolvimento, provocando a sua morte e posterior dessecação, ficando o cadáver como uma múmia, com aspecto de um troço de gesso de cor branca ou pardo escuro. E é por isso que se conhece vulgarmente como criação engessada ou criação calcificada (HEATH, 1982 e PUERTA et al., 1989). É uma doença factorial, na qual além da presença do agente etiológico têm de actuar causas predisponentes para que se manifeste (HEATH, 1982). Este facto tem originado grandes problemas para poder reproduzi-la de forma controlada nas colmeias, e tem impedido em grande parte a sua investigação. PUERTA et al. (1984) e FLORES et al. (1996) desenvolveram uma técnica para poder reproduzir o processo de forma controlada em condições seminaturais, aplicando como factor de stress o arrefecimento da criação, e abrindo grandes possibilidades para o estudo desta doença. Assim, este estudo teve como objectivo a aplicação desta técnica para averiguar a forma mais eficaz de inocular os esporos de *Ascosphaera apis* em colmeias de *Apis mellifera* L.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado no Centro Andaluz de Apicultura Ecológica, em Córdova (Espanha), ao longo do mês de Maio de 2000. Para os ensaios utilizaram-se 12 colónias de abelhas alojadas em colmeias de modelo Langstroth, preparadas com armadilhas captapólen para recolher as múmias.

Neste ensaio foram estudados três métodos de inoculação de colmeias de *Apis mellifera* com esporos de *Ascosphaera apis*, aplicando uma nova técnica para induzir a doença, segundo o método de inoculação. Os esporos foram inoculados de três formas: incluídos no alimento (glicose), misturados com o pólen e suspensos em água destilada e fumigados sobre os quadros; um quarto grupo de colmeias não foi inoculado ficando como colmeias de controlo. Para cada forma de aplicação foram utilizadas 3 colmeias e todo o processo foi repetido 3 vezes. O grau de incidência da doença mediu-se de duas formas: através da recolha de múmias nas armadilhas colectoras de pólen, nos quadros e estrados das colmeias e pela indução da doença mediante um stress térmico. Neste sentido, e para comprovar a eficácia das distintas formas de inoculação foram retiradas porções de favos de cada colmeia, contendo larvas de abelhas que se encontravam na fase prévia à operculação. As porções de favos contendo esta criação foram arrefecidas a 18°C durante 24 horas e posteriormente devolvidas às colmeias para serem operculadas. Após a operculação, esta porção de cria foi recuperada e mantida numa incubadora, a 25°C, durante um período de 6 dias. Os dados foram analisados através de análise de variância não paramétrica, pelo programa Statistica/W5.0 (STATSOFT, 1995). Para comparar entre os distintos tratamentos foi aplicado o teste Kruskal – Wallis ANOVA e o teste Mann – Whitney U quando se compararam dois a dois.



## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os nossos resultados, não foram registadas diferenças significativas entre os diferentes tratamentos, ou seja, no número de múmias recolhidas nas armadilhas captapólen, nos quadros, nos estrados, nem no total de múmias recolhidas ( $P>0,05$ ) (Quadro I). As duas formas mais eficazes de inocular os esporos nas colmeias foi fumigando-os em água destilada sobre os quadros e misturando-os com o pólen, com uma percentagem média de mumificação de  $90,63\pm 3,34$  e  $86,32\pm 2,18$  respectivamente, não existindo diferenças significativas entre ambos os tratamentos ( $P>0,05$ ). Contudo, os dados revelam diferenças significativas entre o grupo de colmeias de controlo e os três grupos de colmeias inoculadas. Por outro lado, as colmeias que se inocularam com esporos misturados no xarope de glicose apresentaram uma incidência da doença significativamente inferior aos outros tratamentos ( $P\leq 0,001$ ) (Quadro II). A dificuldade de fazer actuar uma causa predisponente de forma controlada dentro das colmeias originou enormes problemas para reproduzir o processo patológico, convertendo-se num sério problema para a investigação de diferentes aspectos desta doença, entre os quais se pode referir a forma mais eficaz de avaliar a intensidade do processo ou demonstrar a melhor forma de inoculação (Gilliam et al., 1978). A falta de diferenças significativas entre o grupo controlo e os diferentes grupos inoculados, e a alta variabilidade dentro de cada tratamento, quando consideramos as múmias recolhidas nas armadilhas colectoras de pólen, nos quadros e nos estrados das colmeias (Quadro I), evidencia uma vez mais a dificuldade de estudar a doença directamente nas colmeias, aonde é realmente difícil controlar o ambiente e evitar ou aplicar de forma controlada uma causa predisponente. Esta é, provavelmente uma das principais razões da disparidade dos resultados apresentados por diferentes autores quando estudaram a doença. Contrariamente, quando aplicamos a técnica descrita por Flores et al. (1996), foram encontradas diferenças muito significativas entre o grupo controlo e os três grupos inoculados, o que confirma as possibilidades desta técnica para o estudo da doença. Por outra parte, os resultados mostram como as duas formas mais eficazes de inoculação são a aplicação dos esporos misturados com o pólen (86.32% de mumificação) ou em água destilada (90.63%). Perante estas duas formas de inoculação, pensamos ser mais recomendável a inclusão de esporos no pólen pela sua maior facilidade de administração. Entre as diferentes causas predisponentes, que não são muito claras, somente o arrefecimento da criação foi confirmado como factor desencadeante (Baily, 1967; Puerta et al, 1994; Flores et al, 1996). Outras causas predisponentes, como por exemplo o excesso de humidade, o abuso na utilização do captapólen, ou a administração inadequada de antibióticos, poderão ser agora estudadas a partir do método descrito.

### QUADRO I - Número de múmias recolhidas em colmeias que receberam diferentes tratamentos de inoculação de esporos de *Ascosphaera apis* (3 colmeias/tratamento).

	Armadilhas captapólen	Quadros	Estrados	Total
Xarope de glicose	121,67±113,23 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	121,67±113,23 <sup>a</sup>
Pólen	50,33±48,37 <sup>a</sup>	90,67±90,67 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	141,00±78,00 <sup>a</sup>
Água destilada	9,50±6,50 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	6,33±4,91 <sup>a</sup>
Colmeias de controlo	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>

a=a, para  $P>0,05$  (entre linhas).

### QUADRO II - Percentagem média de múmias de ascosferose registadas em colmeias que receberam diferentes tratamentos de inoculação de esporos (3 colmeias/tratamento).

	Alvéolos examinados	Percentagem de mumificação
Xarope de glicose	950	60,13±6,14 <sup>a</sup>
Pólen	871	86,32±2,18 <sup>b</sup>
Água destilada	1084	90,63±3,34 <sup>b</sup>
Colmeias controlo	1018	5,92±1,00 <sup>c</sup>

a≠b, a≠c e b≠c para  $P\leq 0,001$ .

## CONCLUSÃO

Este estudo evidencia, uma vez mais, o carácter factorial da ascosferose. Por outra parte, a técnica descrita para a indução desta doença, aplicando um arrefecimento à criação, mostrou-se eficaz para estudar o processo. Por último, a inoculação das colmeias com esporos misturados com pólen ou água destilada foi mais eficaz do que a sua inclusão no xarope açucarado.

## BIBLIOGRAFIA

- BAILEY, L. (1967). The effect of temperature on the pathogenicity of the fungus *Ascosphaera apis* for larvae of the honeybee, *Apis mellifera*. In: Insect Pathology and Microbial Control (Van der Laan PA, ed) North Holland Publishing Co, Amsterdam, The Netherlands, 162-167.
- FLORES, JM; RUIZ, JA; RUIZ, JM; PUERTA, F; BUSTOS, M; PADILLA, F; CAMPANO, F (1996). Effect of temperature and humidity of sealed brood on chalkbrood development under controlled conditions. *Apidologie* 27, 185-192.
- GILLIAM, M; TABER, S; BRAY ROSE, J (1978). Chalkbrood disease of honey bees, *Apis mellifera* L.: a progress report. *Apidologie* 9, 75-89.
- HEATH, LAF (1982). Development of chalkbrood in a honeybee colony: a review. *Bee World* 63, 119-130.
- PUERTA, F; FLORES, JM; BUSTOS, M; PADILLA, F; CAMPANO, F (1994). Chalkbrood development in honeybee brood under controlled conditions. *Apidologie* 25, 540-546.
- PUERTA, F; PADILLA, F; BUSTOS, M; FLORES, JM; PELLÍN, PP; ALONSO, JM (1989). Algunas aportaciones sobre la ascosferiosis en *Apis mellifera*. *Vida Apícola* 83, 44-51.
- REMBOLD, H; KREMER, JP; ULRICH, GM (1980). Characterization of postembryonic developmental stages of the female castes of the honey bee, *Apis mellifera* L. *Apidologie* 11, 29-38.